Dott. Maffo Vialli

IL DECORSO DELLA RIIDRATAZIONE NELLA *RANA ESCULENTA* DISIDRATATA

(NOTA PREVENTIVA)

Gli studii compiuti da molti autori hanno stabilito per moltissimi invertebrati (Rotiferi, tardigradi, lombrici, molluschi gasteropodi polmonati) la possibilità di una morte apparente in seguito a disidratazione; questo stato particolare di vita latente venne chiamato anabiosi. Nei vertebrati un fenomeno simile è stato riscontrato solo nel *Protopterus*, che nel periodo di siccità, quando venga a mancare l'acqua, circondandosi di uno strato di fango e cadendo in istato di vita latente può vivere fino all'inizio della stagione delle piogge.

Già molti avevano cercato di verificare se qualcosa di simile avvenga anche negli anfibii (non è però qui il caso di parlare di una vita latente vera e propria ma piuttosto di una attenuazione sempre più spiccata dei fenomeni vitali di relazione) cercando anche di stabilire la possibilità di una riidratazione consecutiva che ridia all'animale le facoltà già perdute.

Già Chossat (1) aveva notato che gli individui rimessi a riidratarsi quando erano già comparsi sintomi gravi dei disturbi che in breve conducono l'animale alla morte, riprendono in pochissimo tempo una funzionalità apparentemente normale ma vanno in seguito incontro a fenomeni che in breve conducono a morte. Durig (3), che però si è occupato solo incidentalmente di tale questione, afferma che rane, già ridotte in cattivissime condizioni a causa della disidratazione, possono riprendersi benissimo. Overton (4) afferma che solo individui

che non presentino disturbi gravi possono riaversi senza per altro descrivere i fenomeni prossimi e postumi degli individui che riprendono la vita normale e di quelli che muoiono.

Ho eseguito anch'io esperienze in questo senso allo scopo di studiare se i fenomeni descritti dallo Chossat si verificano realmente e nel caso affermativo a che cosa essi possono essere attribuiti; le mie esperienze sono state eseguite esclusivamente sulla *Rana esculenta* poichè gli anuri per la loro forma e la loro vivacità di movimenti più si prestano a uno studio della normalità del ripristino delle loro funzioni.

Ricordo qui subito un paio di esperienze eseguite incidentalmente sul *Triton cristatus*: esemplari molto disidratati e ridotti già in condizioni di paralisi e anestesia quasi complete, posti in acqua hanno ripreso alcuni movimenti che si sono esplicati però in modo incoordinato e saltuario e quindi sono morti senza presentare ulteriori fenomeni degni di nota. In modo uguale si è comportata l'unica delle rane su dieci che non si è rimessa. Fenomeni consimili ho avuto anche agio di constatare in rane disidratate e quindi sottoposte a respirazione artificiale; l'operazione veniva eseguita su individui già anestesici e paralitici ponendo nelle rime della glottide una cannula di vetro in comunicazione colla soffieria di un polverizzatore che veniva fatto agire ritmicamente in modo da provocare l'alternarsi regolare delle inspirazioni e espirazioni. Anche in questi casi gli individui dopo pochi minuti riprendevano una leggera motilità riflessa e arrivavano anche qualche volta a compiere movimenti apparentemente volontari; il miglioramento era però di breve durata perchè, al cessare della respirazione artificiale o anche dopo un certo tempo anche se essa continuava si aveva una nuova diminuzione della eccitabilità che in breve riscompariva.

Ben differenti sono invece i fenomeni che si osservano quando l'animale riprende le proprie funzioni in modo normale per immersione in acqua: dopo pochi minuti che l'animale è immerso nell'acqua (noto qui che l'acqua usata essendo tolta direttamente dalla conduttura era sempre di qualche grado più fredda dell' ambiente e quindi dell'animale) si nota un primo accenno di vita, accenno che può essere dato o da un gruppo di respirazioni o da movimenti degli arti; secondo me può darsi che questo movimento abbia il valore di un riflesso

che avviene appena l'animale ritorna eccitabile per lo stimolo dato dall'acqua come mezzo differente dal normale e come stimolo termico. Succede poi un periodo di relativa mancanza di movimenti, almeno sul principio, in seguito si notano movimenti o gruppi di movimenti riflessi che si succedono a intervalli sempre più brevi per stimolazione tattile; a poco a poco i movimenti si fanno volontarii.

I fenomeni di ripresa dei movimenti seguono, si può dire, in senso inverso la via percorsa nella disidratazione: si ha così il periodo in cui l'animale ha movimenti simili a quelli di un rospo finchè, attraverso a periodi di forte astenia e di una certa incoordinazione di movimenti si giunge al completo ripristino della motilità normale, almeno in apparenza.

Questi fenomeni avvengono in un tempo brevissimo, relativamente al tempo impiegato dall'animale a disidratarsi, anche nel caso di disidratazioni piuttosto rapide: i primi sintomi di vita, nel caso in cui l'animale era, all'inizio della disidratazione, completamente anestesico e paralitico, si hanno dopo un periodo che va da pochi minuti a non più di mezz'ora; la motilità volontaria compare dopo un periodo da due a quattro ore; la motilità normale fa seguito dopo un periodo di poco meno di due ore circa.

Ma a questo stato di apparente normalità funzionale seguono generalmente dei disturbi postumi: l'animale mostra dapprima leggeri disturbi di sensibilità riflessa: i riflessi si mostrano meno pronti e non sempre sono presenti; la rana posta sul dorso non mostra, in uno stadio un po' più avanzato, il riflesso geotropico e rimane in posizione anche molto scomoda senza muoversi. Giunto all'inizio di questo stadio l'animale mostra tendenza a sfuggire dall'acqua e, se vi viene costretto a forza, si drizza sulle pareti del vaso in modo da lasciare immersa una minore superficie di assorbimento. Nel frattempo la motilità si fà in principio goffa e in seguito anche fortemente astenica. In un ulteriore periodo scompare la motilità volontaria e la riflessa si presenta ridottissima; la gradazione però nella perdita dei riflessi è qui differente poichè si nota molto frequentemente scomparsa dei riflessi geotropico e oculare in un periodo in cui persistono altri riflessi mentre di solito essi sono gli ultimi a scomparire nel processo di disidratazione. Contemporaneamente a questi disturbi funzionali

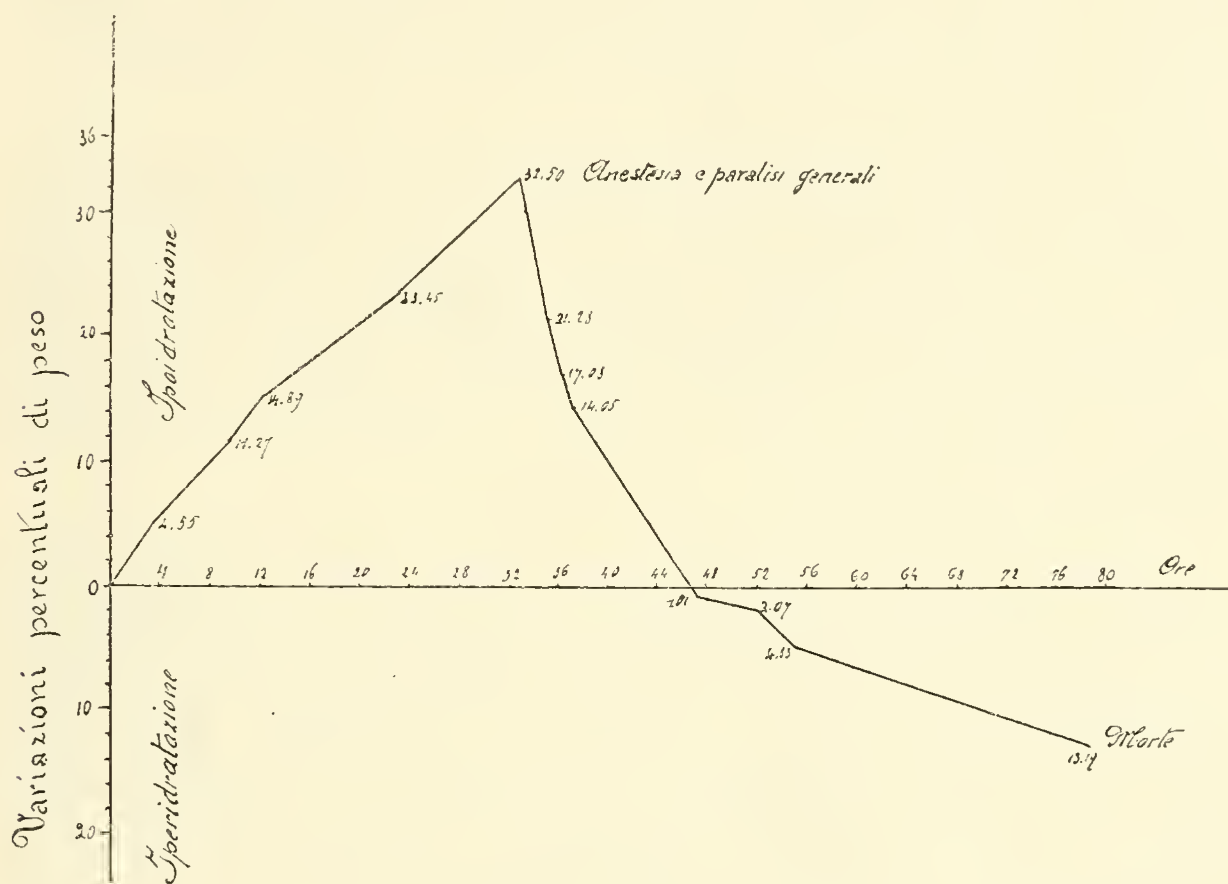
si notano nell'animale altri fenomeni: i muscoli si ingrossano senza per altro divenire apparentemente edematosi essi sono in un primo periodo non troppo turgidi poi vanno man mano sempre più inturgidendosi e ingrossandosi tanto che, nelle coscie, in cui il fenomeno si mostra più spiccatamente, la pelle, che ordinariamente è molto rilassata per la presenza del sacco linfatico, si fa aderente e costringe la musculatura; questi disturbi di solito precipitano in breve e portano rapidamente l'animale a anestesia e paralisi complete. Questi fenomeni si manifestano e decorrono entro limiti di tempo assai larghi: così i primi disturbi a carico della sensibilità possono verificarsi da dieciasette a quarantadue ore dopo l'inizio del processo di riidratazione; gli altri fenomeni, non sempre conformi in tutti i particolari alla descrizione tipo da me ora data, portano l'animale alla morte in un periodo di tempo variabile dalle ventitrè alle sessanta ore circa quando non si tolga mai l'animale dall'acqua.

Quando l'individuo su cui esperimento è giunto a questo stadio di paralisi e anestesia generale compio una sommaria autopsia in tutto simile a quello di cui ho parlato per gli individui disidratati in un mio precedente lavoro (5) osservando inoltre le condizioni del circolo e la funzionalità dei cuori linfatici, essendo nota la grande influenza che il sistema linfatico esercita sulla regolazione osmotica degli anfibii. Generalmente i muscoli e il fegato sono molti ingrossati l'intestino si presenta rigonfio e contiene un liquido giallastro che forse rappresenta in parte un prodotto di escrezione d'acqua della mucosa; qualche volta si nota pure del liquido nella cavità peritoneale. Per ciò che riguarda la circolazione, il cuore, generalmente, pulsa ancora sebbene con piccola intensità: non riesce però a svuotarsi completamente, durante la sistole, del sangue di cui è ripieno. Il sangue è sempre piuttosto chiaro come se fosse diluito e non si presenta mai di colorito asfittico. La circolazione è o sospesa o molto ridotta per obliterazione di numerosi vasi anche di un certo calibro: per le zone in cui è sospesa non è possibile vedere se esistano leggi particolari, ho notato però frequentemente sospensione della circolazione nel rene complicata dalla presenza di piccole chiazze emorragiche.

I cuori linfatici posteriori si presentano di solito pulsanti

con una certà intensità. Molte volte forti eccitazioni (pinzettamenti ecc.) portati sul midollo spinale e sui nervi non valgono a far nascere fenomeni di motilità riflessa.

Interessante è il verificare come, comparativamente all'esplicarsi di questi fenomeni del riacquisto della motilità e al consecutivo aggravamento dell'animale, varii il grado di idratazione dell'animale. Do un esempio del variare della quantità d'acqua espressa in funzione delle variazioni percentuali di peso: nelle ascisse è segnato il tempo, lungo le ordinate le variazioni di peso percentuale; nel campo superiore si ha tutto il periodo di ipoidratazione, per la disidratazione e per il primo periodo di riidratazione; nel campo inferiore si ha invece



il secondo periodo della riidratazione quello in cui l'animale è iperidratato.

All'acme della curva (perdita percentuale del 32.50 del peso) l'animale è quasi anestesico: l'unico riflesso che persiste ancora è il respiratorio. Nell'intermezzo tra questo valore e il primo valore trovato per la riidratazione l'animale riprende la maggior parte dei proprii movimenti con una gradazione simile a quella che ho descritto sopra e non presenta più che una motilità leggermente goffa e astenica; alla seconda pesata l'animale presenta motilità perfettamente normale. Alla quin-

dicesima ora di riidratazione la rana ha di poco superato il punto iniziale di idratazione, è ancora normalissima; dopo qualche ora l'animale cerca di sfuggire dall'acqua ma viene costretto a rimanervi, si comincia a notare una certa turgidità muscolare che va sempre aumentando specialmente nei muscoli del treno posteriore mentre cominciano a insorgere i caratteristici disturbi la cui durata è stata in questo caso di una quindicina di ore.

Calcolati dal residuo secco a 100° gradi i soliti valori ho avuto i seguenti risultati: quantità d'acqua iniziale 78,51 %; quantità d'acqua al massimo della disidratazione 45.37 %; quantità d'acqua al limite della iperidratazione 81,32 %. Durante il decorso della riidratazione contrariamente a quanto avviene di solito non si è avuta che pochissima acqua in vescica.

Se noi osserviamo il tracciato del fenomeno per questa rana come del resto per quello di altri individui vediamo subito che la velocità di riidratazione presenta due valori differenti: in un primo tempo, quando l'animale è ancora in istato di ipoidratazione, la velocità è massima; quando però l'animale ha raggiunto o quasi lo stato di equilibrio la velocità di assunzione si fa minore.

Conoscendosi l'altissima importanza della secrezione renale per la regolazione osmotica e quindi per la regolazione della quantità d'acqua nei tessuti è interessante vedere, almeno grossolanamente, come si comporta la formazione dell'urina nelle rane poste a riidratare. Dopo qualche ora di riidratazione quando l'animale è ancora abbastanza lontano dal periodo di equilibrio si comincia a notare, in quasi tutti i casi, la presenza di urina più o meno abbondante in vescica.

Questa quantità va sempre aumentando tanto da presentarsi abbondantissima nelle ulteriori osservazioni. Naturalmente tutte le pesate vengono fatte dopo eliminazione dell'urina per leggera compressione della vescica. Per alterazioni patologiche che di cui mi è per ora impossibile precisare la sede e la natura (potrebbe darsi che il fenomeno si avveri o per un esagerato potere di imbibizione che presentano i tessuti rispetto al mezzo organico o per una diminuita capacità secretoria del rene per cui i tessuti sono costretti a trattenere parte del li-

quido assorbito attraverso la pelle) l'animale perde il proprio potere di regolazione della quantità d'acqua del corpo e cade in iperidratazione.

Era interessante vedere se la causa vera della morte era questo stato di iperidratazione o se esso non potesse essere che un fenomeno concomitante a cui potere al più attribuire una parte nel far insorgere i fenomeni sovradescritti. Ho tentato quindi di eliminare questo fattore ponendo in un periodo ulteriore l'animale in camera umida piuttosto che immerso in acqua.

Se si pone l'animale, appena è giunto al punto di idratazione che aveva all'inizio dell'essiccamento, lontano dall' acqua, in atmosfera satura di umidità, non si notano i fenomeni che ho descritti sopra e l'animale non mostra apparentemente alcun disturbo. Nel caso che in un individuo fossero già insorti disturbi in conseguenza della iperidratazione, se esso viene posto fuori dall'acqua e lasciato anche per un po' all'aria libera (in modo che esso parzialmente si disidrati) si ha sempre un sensibile miglioramento almeno temporaneo e nei casi in cui i disturbi non erano molto gravi si puo ottenere il ripristino totale della funzione.

Se si prende un animale che, per essere stato tolto dall'acqua al momento giusto, si trova da parecchi giorni (fino a 7) in buone condizioni e lo si pone di nuovo in acqua si vedono entro brevissimo tempo insorgere i fenomeni descritti e la morte consecutiva. Da queste esperienze mi pare che si possa arguire che la morte è in istretta relazione collo stato di iperidratazione che si verifica nell'animale essa lo colpisce quando il grado di iperidratazione è pressapoco simile a quello citato sopra per l'individuo di cui ho dato nel diagramma la curva della variazione percentuale di peso; circa la percentuale d'acqua contenuta nel corpo non ho dati sufficienti.

Ricordo qui, prima di passare a una discussione generale delle cause della morte un caso aberrante che ho constatato nel decorso delle mie esperienze sebbene esso non getti alcuna luce nuova sulla possibile interpretazione dei fenomeni che normalmente si avverano.

Rana esculenta LVII ♀ ; peso iniziale mg 14710; perdita di peso percentuale all' atto dell' inizio della riidratazione 32.69 %; l' animale è completamente anestesico e paralitico.

Dopo cinque ore dacchè è stato posto in acqua non si è ancora rimesso completamente sebbene abbia quasi raggiunto il grado di idratazione iniziale. Dopo altre dodici ore l'individuo ha sorpassato il grado di idratazione iniziale; esso presenta apparentemente i soliti sintomi dell'animale iperidratato abbastanza gravi: però, in molti casi, degli eccitamenti, in tutto simili a altri a cui l'animale non ha apparentemente reagito, bastano a far insorgere una violentissima crisi convulsiva in cui presenta un atteggiamento caratteristico.

La bocca è largamente aperta per contrazione dei muscoli abbassatori della mandibola, le zampe anteriori sono strette fortissimamente al petto, le posteriori invece compiono movimenti disordinati o sono in istato di completa flessione; i muscoli ventrali sono in contrazione tetanica, tanto che, per la pressione intraventrale aumentata, l'animale ha vomitato attraverso la glottide un polmone, si ha dispnea verificabile dalla maggiore ampiezza assunta dai movimenti di deglutizione. L'animale posto in camera umida continua a perdere lentamente parte dell'acqua superflua; le crisi però continuano per circa quarantott'ore da quando ne ho constatato l'inizio; l'animale è però ancora iperidratato. Lo opero di ablazione degli emisferi cerebrali per osservare i fenomeni che può mostrare tolti i centri nervosi superiori; però, date forse le cattive condizioni in cui già si trovava, muore; all'autopsia noto che: il cuore è fermo, il midollo e il plesso nervoso lombo-sacrale sono ipereccitabili, i muscoli sono molto infiltrati e mollicci, nella cavità peritoneale si ha presenza di liquido.

Probabili cause di questi disturbi. Se noi cerchiamo di indagare quali possano essere le cause di queste morti per iperidratazione noi vediamo che il campo è oscurissimo. Ricordando gli studii del Ducceschi (2) sulla funzione dell'acqua nel metabolismo dei centri nervosi, studii che hanno stabilito che generalmente soluzioni ipotoniche mantengono meglio l'eccitabilità dei centri nervosi che non soluzioni ipertoniche e ricordando anche il dato del Durig (3) che mostra come nei processi di variazione di percentuali d'acqua per disidratazione gli organi meno sensibili sono i centri nervosi parrebbe logicamente che i gravi disturbi debbano avere origine periferica e non centrale:

Coi metodi delle pesate dirette a stabilire le variazioni

nelle percentuali d'acqua nel midollo spinale non è possibile ottenere dei dati sicuri per la forte variabilità, che, come ha notato il Ducceschi, esso possiede anche in condizioni fisiologiche. Anche su questa questione della origine dei disturbi non è possibile emettere una ipotesi se non in seguito a studii osmotici condotti colla moderna tecnica termoelettrica in modo da poter constatare le modificazioni chimico-fisiche che avvengono nei tessuti.

Solo la possibilità di indagini in questo senso potrà darci forse la spiegazione dei due problemi: l'origine del mancato potere di regolazione rispetto alla percentuale dell' acqua totale e le cause dei disturbi che da questa mancata regolazione derivano.

Pavia, Istituto di Anatomia e Fisiologia comparate, 30 novembre 1920.

BIBLIOGRAFIA

1. Chossat Th. — *Recherches sur la concentration du sang chez les Batraciens* (Archiv. de Physiologie normale et path. Vol. 1 e 2, 1868-1869).
2. Ducceschi V. — *Sul metabolismo dei centri nervosi. 1. L'acqua nelle funzioni del sistema nervoso* (Lo Sperimentale, Vol. 52, 1898).
3. Durig A. — *Wassergehalt und Organfunktion* (Pflügers Archiv Bd. 85-87-92, 1901-1902).
4. Overton E. — *Neununddreissig Thesen über die Wasserökonomie der Amphibien und der osmotischen Eigenschaften der Amphibienhaut* (Verhandlungen der physik. medicin. Gesellschaft zu Würzburg Bd 36, 1904).
5. Vialli M. — *Disidratazione nella* « Rana esculenta » (Atti Soc. Italiana di Scienze Naturali Vol. 60 1921).